

(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(51) Int. Cl.  
G01N 27/327

(11) 공개번호  
(43) 공개일자

특1999-0069205  
1999년09월06일

(21) 출원번호 10-1998-0003301

(22) 출원일자 1998년02월05일

(71) 출원인 이규성  
대한민국  
137000  
서울특별시 서초구 잠원동 49번지 8호 72/4 한강아파트 1-408

(72) 발명자 이규성  
대한민국  
137-000  
서울특별시 서초구 잠원동 49번지 8호72/4 한강아파트 1-408

(74) 대리인 노완구

(77) 심사청구 있음

(54) 출원명 생물화학적산소요구량 측정용 바이오센서와 그제조방법

요약

본 발명은 생물화학적산소요구량(BOD)을 측정하기 위한 바이오센서와 그 제조방법에 관한 것으로, 고분해능력 활성오니의 미생물인 슈도모나스(Pseudomonas) 속이 고정화된 바이오센서를 이용하여 용존산소의 변화량을 계속하여 BOD를 측정하는 것을 특징으로 하며, BOD측정시 시료의 전처리가 필요 없고, 방해물질의 영향을 받지 않으며, 저농도에서 고농도까지 시료의 농도에 관계없이 단시간 내에 BOD를 측정할 수 있다.

대표도

도1

명세서

도면의 간단한 설명

도 1은 본 발명에서 사용된 바이오센서

도 2는 본 발명에서 사용된 생물화학적산소요구량 측정기.

도 3은 실시예의 BOD와 전류값의 상관성을 나타내는 그래프.

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

본 발명은 하천수, 생활·산업계 오수, 분뇨, 하수, 폐수 등의 유기물질을 측정하는 데 이용되는 생물화학적산소요구량(이하, BOD : Biochemical Oxygen Demand라 함)을 측정하는 바이오센서와 그의 제조방법에 관한 것이다.

현재, 사용되고 있는 환경부 수질오염 공정시험법에 공시되어 있는 BOD측정법은 시료를 20℃에서 5일간 저장하여 두었을 때 시료중의 호기성 미생물의 증식과 호흡작용에 의하여 소비되는 용존산소의 양으로부터 BOD값을 측정하는 방법이다.

일반적으로 BOD측정은 시료의 예상 BOD값으로 단계적 희석배율을 정하여 3~5종의 희석검액 두 개를 1조로 하여 조제하는 희석법이 사용된다. 처음의 희석 시료자체의 용존산소량과 20℃에서 5일간 배양할 때 소비된 용존산소의 양은 용존산소 측정법에 따라 측정한다. 이 때, 5일간 저장한 후의 산소소비량이 40~70% 범위 안의 희석검액인 것을 선택하여 처음의 용존산소량과 5일간 배양한 후에 남아있는 용존산소량의 차로부터 BOD를 계산한다. 다만, 시료를 식중하여 BOD를 측정할 때는 실험에 사용한 식중액을 희석수로 단계적으로 희석하여 실험하고, 배양후의 산소소비량이 40~70% 범위 안에 있는 식중 희석수를 선택하여 배양 전후의 용존산소량과 식중액 함유율을 구하고 시료의 BOD값을 보정한다.

시료를 희석할 때에는, 시료에 독성물질이 함유되어 있거나 구리 또는 납, 아연 등의 금속이온이 함유된 시료는 호기성미생물의 증식에 영향을 주어 정상적인 BOD값을 나타내지 않게 되므로, 시험적정여부를 검토하여야 한다.

또한, 시료중의 용존산소가 소비되어 산소의 양보다 적을 때에는 시료를 희석수로 적당히 희석하여 사용하여야 하며, 공장폐수나 혐기성발효의 상태에 있는 시료는 호기성산화에 필요한 미생물을 식중하여야 한다. 또한, 시료가 산성이거나 알칼리성일 때, 잔류염소등의 산화성물질이 함유되어 있을 때, 용존산소가 과포화 상태일 때는 전처리를 하여야 한다.

이처럼 BOD측정을 위하여는, 전반적인 시료검토 및 희석조제, 전처리, 희석수검토와 시험적정여부 등의 시험전반에 대한 검토와 동시에 용존산소의 농도를 결정하며, 측정하는 등의 복잡한 공정을 갖고 있어서 BOD를 측정하려면 고도의 숙련된 기술이 필요하다.

아에, 이러한 결점들을 극복하기 위하여 BOD센서가 개발되었으며, 이는 상기 측정방법과 비교하면 아주 간편하게 BOD를 측정할 수 있는 기기이다. 하지만, 공장폐수와 같은 고농도 BOD의 측정은 가능하나, 하천수나 호수수, 지하수와 같이 5mg/l 이하의 저농도의 BOD는 측정할 수 없다. 이는 BOD센서에 고정되어 있는 미생물이 난분해성물질 측정에 호흡활성을 할 수 없기 때문이다.

#### 발명이 이루고자 하는 기술적 과제

본 발명은 이러한 결점들을 극복하기 위하여 하천·지하수 등과 같은 저농도에서부터 분뇨·공장폐수와 같은 고농도까지의 다양한 농도에서 BOD측정이 가능하며, 단시간내에 BOD를 측정할 수 있는 BOD센서를 제조하는 것을 과제로 한다.

#### 발명의 구성 및 작용

본 발명은 BOD측정이 단시간 내에 가능하며, 산업폐수뿐 아니라 하천·지하수 등과 같이 다양한 농도에서의 BOD측정이 가능한 BOD측정용 센서와 그 제조방법에 관한 것으로, 더욱 자세하게는 산업폐수 또는 하천수·지하수 등이 미생물이 고정화된 바이오센서를 통과함으로써 소모되는 산소량을 전류로 측정하여 BOD를 측정하는 것이다.

이하, 본 발명을 더욱 자세하게 설명한다.

본 발명은 저농도 BOD의 지하수 및 고농도 BOD의 분뇨, 난분해성 유기물질을 함유하는 폐수 등을 슈도모나스(Pseudomonas)속이 고정화된 바이오센서를 통과시킴으로써, 바이오센서에 고정화된 미생물의 호흡활성으로 인하여 나타나게 되는 용존산소의 변화량을 산소전극에서 계측하여 BOD농도를 측정하는 것으로, 난분해성 및 분해성 유기물질에 의해 호흡활성이 상승하는 미생물과 산소전극을 조합시킨 바이오센서를 이용하여 유기물질량과 산소소비량을 전류값으로 나타내는 고강도 BOD측정용 센서에 관한 것이다.

생물학적인 방법에 의한 수처리는 물속에 존재하는 유기물질을 미생물에 반응시켜 무기물로 전환시키는 것이다. 이 과정에서 유기물과 미생물세포의 접촉에 의한 흡착으로 미생물 효소에 의해 영양물질인 유기물이 무기물로 분해된다. 따라서, 단시간에 유기물질을 무기물로 빨리 전환시키기 위해서는 미생물의 생식과 성장속도를 빠르게 하여야 하며, 이러한 특성의 미생물을 토양이나 폐수처리장 등에서 단리(Screening)한 활성오니를 특수배양해 난분해성 유기물질들을 고분해 할 수 있는 능력을 갖도록 해서 이들을 센서의 소자로 이용한다.

본 발명에 사용되는 슈도모나스(Pseudomonas)속의 가장 바람직한 예로는 슈도모나스 푸티다(Pseudomonas Putida)가 적당하다.

BOD를 측정할 때에는 시료의 온도가  $20\pm 1^\circ\text{C}$ 가 되게 유지하며, 시료의 pH가 중성이 아닐 경우에는 완충액을 사용하여 시료를 중성으로 만든 후 바이오센서를 통과시켜 BOD를 측정토록 한다.

#### < 실시예 >

난분해성 유기물을 함유한 인공합성폐수(후민산 25%, 리그닌 14%, 탄닌산 26%, 아라비아고무 28%, 계면활성제 5.5%, 유기물 1.5%)을 사용해서 유기물질의 분해능력이 우수한 바실루스(Bacillus)속, 슈도모나스(Pseudomonas)속, 트리코스포론(Trichosporon)속, 플라보박테리움(Flavobacterium)속의 미생물들을 각각 인공합성폐수실험을 하여 고분해성활성오니를 스크리닝하였다. 이 중 슈도모나스 푸티다(Pseudomonas Putida)가 가장 호흡활성이 강하여 도 1과 같이 바이오센서 표면에 이를 고정화하였다.

이 후, 중금속영향을 조사하기 위하여, 난분해성 유기물이 함유된 인공폐수(후민산 25%, 리그닌 14%, 탄닌산 26%, 아라비아고무 28%, 계면활성제 5.5%, 유기물 1.5%)에 BOD 1mg/l당  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$  를 1mg/l씩 주입한 후 도 2의 장치를 사용하여 BOD를 측정하였다. 이 후, 미생물 분해율을 조사한 바,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  가 함유된 경우에는 중금속이 함유되지 않았을 경우와 동일한 수치의 BOD가 측정되었으며,  $\text{Cr}^{3+}$  가 함유된 경우에는 중금속이 함유되지 않았을 경우보다 약 0.12% 낮은 BOD의 값이 측정되었으나, 이 수치는 유기물질농도측정에는 큰 영향이 없는 것으로 밝혀졌다.

이처럼 인공합성폐수는 고성능 우점균 미생물의 호흡활성을 저해하지 않으며, 중금속, 난분해성 계면활성제 등이 하천수 등에 함유되어도 측정이 가능하고, 전처리 등이 없이도 측정할 수가 있음을 알 수 있다.

또한, 인공합성폐수에 대한 BOD별 전류값의 상관성을 도 3에 나타내었다. 기존 BOD<sub>5</sub> 법과 바이오센서법으로 측정한 값을 비교한 바, 98~110%로 비슷하게 나타남을 알 수 있다.

#### 발명의 효과

본 발명의 바이오센서를 이용함으로써, 단시간 내에 BOD를 측정할 수 있으며, 측정시 시료의 전처리가 필요 없고, 방해물질의 영향도 받지 않으며, 고농도에서 저농도까지의 다양한 농도측정이 가능하여 실제 정부의 수계관리와 수질오염방지 대책에 이용할 수 있다.

#### (57) 청구의 범위

##### 청구항 1.

바이오센서에 슈도모나스(Pseudomonas)속 미생물이 고정화되는 구조를 갖는 것을 특징으로 하는 생물화학적산소요구량 측정용 바이오센서.

##### 청구항 2.

제 1항에 있어서, 상기 미생물이 슈도모나스 푸티다(Pseudomonas Putida)인 것을 특징으로 하는 생물화학적산소요구량 측정용 바이오센서.

##### 청구항 3.

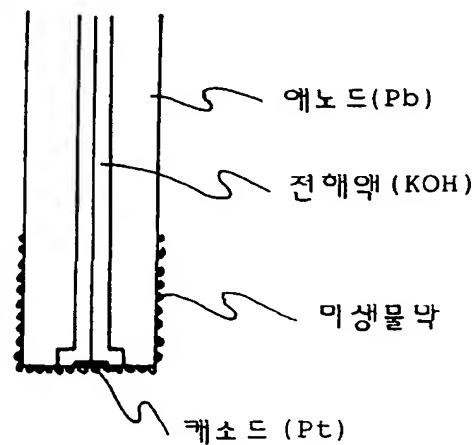
- 제 1항 또는 제 2항에 있어서, 상기 미생물이 바이오센서 표면에 고정화되는 것을 특징으로 하는 생물화학적산소요구량 측정용 바이오센서.

청구항 4.

바이오센서에 슈도모나스(Pseudomonas)속 미생물을 고정화하여 생물화학적산소요구량을 측정하는 방법.

도면

도면 1



도면 2

